

# Ausgeglichene Proben- Coverage bei der Genom- sequenzierung

Indexkorrekturstrategien für  
Illumina DNA PCR-Free Prep

- Höhere minimale Coverage bei multiplexierten Bibliotheken
- Stabilere Indexperformance durch Anpassung der Volumina beim Bibliothekspooling
- Weniger Abfall und geringere Sequenzierungskosten bei Hochdurchsatz-Studien

**illumina**<sup>®</sup>

## Höhere minimale Coverage bei multiplexierten Proben

Illumina DNA PCR-Free Prep, Tagmentation (Illumina DNA PCR-Free) bietet eine optimierte Bibliotheksvorbereitungslösung für eine Vielzahl von Anwendungen bei der Genomsequenzierung (WGS, Whole-Genome Sequencing). Auf Basis von Chemie mit Bead-gebundenen Transposons erzielt Illumina DNA PCR-Free eine gleichmäßige Coverage des gesamten Genoms und ermöglicht ein einfaches volumenbasiertes Bibliothekspooling.<sup>1,2</sup> Mit Illumina DNA PCR-Free und dem NovaSeq™ 6000 System oder der NovaSeq X Series können Hochdurchsatzlabore WGS-Bibliotheken multiplexieren und damit maximale Effizienz erzielen. Das gleichmäßige Sequenzierungsergebnis bei multiplexierten WGS-Proben ermöglicht Anwendern die Analyse von mehr Proben pro Fließzelle und zugleich die für ein sicheres Varianten-Calling erforderliche minimale Coverage.

Die Coverage-Tiefe der einzelnen Proben ist von unterschiedlichen Faktoren abhängig, darunter das Gesamtsequenzierungsergebnis, die Anzahl der Proben pro Fließzelle und die Variabilität des Probenergebnisses. Anwender können die Anzahl der Proben pro Lauf erhöhen, die bei der Sequenzierung die gewünschte Coverage erzielen, indem sie die mittlere Coverage aller Proben erhöhen oder die Variation zwischen den Proben reduzieren (Abbildung 1). Sowohl die Qualität der DNA-Zugabe als auch die Pipettiervariabilität und die Indexperformance tragen zur Variabilität des Sequenzierungsergebnisses für die einzelnen Proben bei. Im Mittelpunkt des vorliegenden technischen Hinweises steht eine Strategie zur Minderung von Varianz durch die Indexperformance.

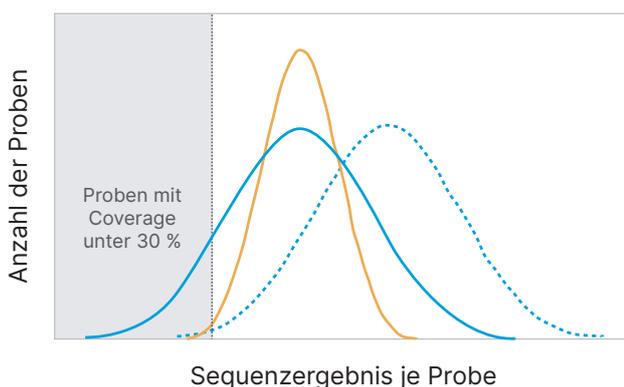


Abbildung 1: Verbesserung des minimalen Sequenzierungsergebnisses für die einzelnen Proben: Bei mehr Proben wird eine mindestens 30-fache Coverage mit einem höheren Sequenzierungsergebnis (blau gepunktet) oder geringerer Varianz (orange) erzielt.

## Einfluss der Indexperformance auf die Proben-Coverage

Illumina DNA/RNA Unique Dual (UD) Indexes, Tagmentation sind in vier Sätzen mit 96 Indexpaaren (Satz A, B, C und D) für insgesamt 384 Indexpaare erhältlich. Bei Verwendung mit Illumina DNA PCR-Free\* und dem NovaSeq 6000 System oder der NovaSeq X Series† ergibt sich bei bestimmten Indexpaaren konsistent ein höheres oder niedrigeres Sequenzierungsergebnis. Bei Indexpaaren mit unterdurchschnittlicher Performance ergibt sich eine Coverage, die unter der für diese Proben gewünschten liegt, während Indexpaare mit überdurchschnittlicher Performance den Anteil der Reads bei anderen Proben reduzieren können.

Der Nachweis der Variabilität der Proben-Coverage aufgrund der Indexsequenz erfolgte anhand einer modifizierten Version des Illumina DNA PCR-Free-Protokolls zur Bibliotheksvorbereitung. Als Zugabe wurde genomische DNA einer humanen Zelllinie (Coriell Institute, Probe NA12878) verwendet. Alle Proben wurden in großen Mengen vorbereitet, um das mit der Qualität der DNA-Zugabe bzw. mit Pipettierungsfehlern verbundene Rauschen zu reduzieren. Beim Indizierungsschritt wurden Proben zur Indizierung über eine 96-Well-Platte aliquotiert und anschließend zur Größenauswahlbereinigung erneut gepoolt.‡ Mehrere Bediener führten insgesamt drei bis fünf Replikate für alle UD-Indexsätze mithilfe manueller Pipetten durch. Für die Indexrepräsentation wurde jeder 96-Proben-Satz auf einer einzelnen Lane einer NovaSeq 6000 S4-Fließzelle mit dem Xp-Workflow sequenziert.

Die normalisierte Indexperformance\*\* wird für die UD-Indexsätze A und B (Tabelle 1) und die Sätze C und D (Tabelle 2) dargestellt. Für diesen Datensatz gilt Folgendes:

- Im Schnitt wichen 32 Indexpaare in einem Satz mit 96 Paaren um mehr als 15 % von der mittleren Performance ab (blaue Wells).
- Auf jeder Platte zeigte sich bei bestimmten Indexpaaren (dunkelblaue Wells) in der Regel ein um mindestens 30 % nach unten abweichendes Ergebnis, wodurch diese Indizes Coverage-Ziele mit hoher Wahrscheinlichkeit nicht erreichen.

\* Illumina DNA PCR-Free zeichnet sich durch eine einzigartige Indizierungsschemie aus. Die Daten zur Indexperformance gelten nicht für andere Bibliotheksvorbereitungskits.

† Eine gewisse Indexvariabilität ist auf Clustering zurückzuführen. Die Daten zur Indexperformance sind sequenziersystemspezifisch.

‡ Die Größenauswahl mit SPRI (Solid Phase Reversible Immobilization, reversible Immobilisierung der Festphase) umfasst zahlreiche Pipettierungsschritte mit einem viskosen Reagenz, die zusätzliche Variationen verursachen können. Durch Poolen von Proben unmittelbar nach der Indizierung konnte die interne Variation reduziert werden (Daten nicht dargestellt).

Tabelle 1: Normalisierte Indexperformance beim 96-Well-Plattenlayout für Illumina DNA PCR-Free sowie UD-Indexsatz A und B

Satz A	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	1,19	1,18	1,07	1,02	0,84	1,20	1,00	0,90	0,98	1,15	1,03	1,03
B	0,82	1,09	0,74	1,02	1,09	1,03	0,77	0,73	1,11	1,09	1,08	0,96
C	0,95	0,82	0,81	0,83	0,78	1,09	0,89	0,99	0,95	1,07	0,96	0,70
D	1,07	0,76	0,92	1,42	1,08	0,96	1,01	1,18	1,10	0,86	1,05	1,28
E	0,95	0,89	1,01	0,85	1,03	0,87	1,00	0,88	1,42	0,88	0,92	1,01
F	1,21	1,07	1,24	1,04	0,91	0,70	1,32	0,97	1,22	1,36	0,95	1,09
G	1,07	0,98	1,21	0,86	0,84	1,20	1,05	1,27	0,95	0,94	1,08	0,98
H	1,16	0,93	1,14	0,80	0,97	1,09	0,91	0,94	1,15	0,73	0,96	1,10

Satz B	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	0,89	1,16	0,94	0,99	1,15	0,98	0,96	1,06	0,81	0,95	0,98	0,85
B	0,78	1,04	0,94	1,12	1,06	1,15	1,04	1,39	1,24	1,13	1,17	1,02
C	0,96	0,85	1,11	1,00	1,22	1,26	0,80	1,43	1,00	0,82	1,13	0,90
D	0,98	0,63	0,95	0,92	1,36	1,05	0,84	0,86	0,75	1,19	0,83	1,00
E	1,00	0,83	0,95	1,00	0,87	1,01	1,28	0,94	0,95	1,19	0,97	1,00
F	0,67	1,27	1,12	0,90	0,76	1,13	1,00	1,03	1,35	1,08	1,01	0,91
G	1,04	1,18	1,19	0,99	0,60	1,22	0,98	0,99	1,18	0,80	1,02	1,00
H	0,94	0,85	0,75	0,94	0,92	1,02	1,09	0,95	0,94	0,94	1,50	0,97

Die Bibliotheksvorbereitung erfolgte manuell anhand von Replikaten von n = 3 (Satz A) bzw. n = 5 (Satz B) mit Illumina DNA PCR-Free Prep. Die Sequenzierung wurde auf dem NovaSeq 6000 System durchgeführt. Die Indexrepräsentation blau markierter Wells weicht um mehr als 15 % vom Median ab. Indexpaare mit einer konsistent um mindestens 30 % nach unten abweichenden Performance (2 aus Satz A, 3 aus Satz B) sind dunkelblau hervorgehoben. Aktuelle Indexrepräsentationsdaten und berechnete Korrekturfaktoren können als Excel-Datei („Illumina DNA PCR-Free Prep Index Correction“) auf der Registerkarte „Documentation“ (Dokumentation) unter [illumina.com/products/by-type/sequencing-kits/library-prep-kits/dna-pcr-free-prep.html](https://illumina.com/products/by-type/sequencing-kits/library-prep-kits/dna-pcr-free-prep.html) heruntergeladen werden.

- Bei einzelnen Plattenspalten zeigten keine Indexpaare oder nur ein Indexpaar eine Abweichung > 15 % vom Median, woraus sich eine höhere Performance als bei der Gesamtplatte ergibt.

Die Indexperformance war replikatübergreifend konsistent ( $R^2 = 0,54-0,80$ ). Beispielsweise zeigt sich bei der Konzentration auf vier Replikate aus der zweiten Spalte der 96-Well-Platte für UD-Indexsatz B (Abbildung 2) ein konsistentes Muster bei der Über- und Unterrepräsentation in Bezug auf den Index.

Dies legt nahe, dass es sich bei der Performance von Ausreißern nicht einfach um Rauschen, sondern um eine grundlegende Eigenschaft der verwendeten Indexpaare handelt. Aus der konsistenten Variabilität der Indexperformance lässt sich eine klare Strategie für die „Indexkorrektur“ in Bezug auf die typische Indexperformance ableiten. Im Prinzip müsste sich die variable Indexrepräsentation durch die Anpassung des Volumens bestimmter Bibliotheken beim Pooling vor der Sequenzierung kompensieren lassen. Es ist anzunehmen, dass Indexpaare mit guter Performance eine geringe Variabilität aufweisen, während es sich bei Indexpaaren mit konsistenter Abweichung vom Median um Kandidaten für die Indexkorrektur handelt.

Tabelle 2: Normalisierte Indexperformance beim 96-Well-Plattenlayout für Illumina DNA PCR-Free sowie UD-Indexsatz C und D

Satz C	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	0,98	0,84	1,12	0,92	0,88	1,40	1,04	0,78	0,89	0,89	1,19	0,85
B	0,70	0,97	0,88	1,13	0,80	1,07	1,21	1,03	1,05	0,86	0,97	1,00
C	0,67	0,96	1,17	1,19	1,05	1,09	1,14	1,07	1,20	1,21	0,86	1,05
D	0,80	1,00	1,23	1,02	1,26	0,89	1,21	0,85	0,60	1,01	1,05	0,92
E	1,15	1,07	0,95	0,85	0,84	0,98	1,16	1,10	0,78	0,88	1,04	1,06
F	1,02	1,07	1,26	1,13	0,47	1,09	1,16	0,91	0,95	1,11	0,80	1,22
G	0,77	0,96	1,17	0,84	1,06	1,11	0,96	0,90	1,14	1,13	1,24	1,09
H	0,78	0,91	1,00	1,02	0,91	1,03	0,98	0,98	0,93	0,99	0,89	0,95

Satz D	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	0,91	0,74	1,01	0,98	0,96	0,73	1,03	1,04	0,97	0,77	0,82	0,84
B	1,22	0,95	1,03	1,19	0,84	0,83	1,02	0,80	0,79	1,05	0,84	0,76
C	1,19	1,14	0,99	0,90	0,93	0,93	1,01	0,80	1,26	1,11	1,02	0,96
D	0,86	0,91	1,16	1,25	1,02	1,12	0,95	1,06	0,99	1,09	1,23	0,91
E	0,69	0,88	1,13	1,03	1,43	0,90	1,23	1,12	1,05	1,30	0,88	1,18
F	0,88	1,13	1,29	0,91	0,82	1,15	0,93	0,93	1,18	1,02	1,24	1,20
G	1,18	0,99	1,07	1,02	1,16	0,93	0,98	0,91	1,03	0,77	1,03	1,03
H	0,96	1,12	1,02	1,23	0,99	0,90	0,95	0,88	1,20	0,80	0,88	0,83

Die Bibliotheksvorbereitung erfolgte manuell anhand von Replikaten von n = 4 (Satz C) bzw. n = 3 (Satz D) mit Illumina DNA PCR-Free Prep. Die Sequenzierung wurde auf dem NovaSeq 6000 System durchgeführt. Die Indexrepräsentation blau markierter Wells weicht um mehr als 15 % vom Median ab. Indexpaare mit einer konsistent um mindestens 30 % nach unten abweichenden Performance (4 aus Satz C, 1 aus Satz D) sind dunkelblau hervorgehoben. Aktuelle Indexrepräsentationsdaten und berechnete Korrekturfaktoren können als Excel-Datei („Illumina DNA PCR-Free Prep Index Correction“) auf der Registerkarte „Documentation“ (Dokumentation) unter [illumina.com/products/by-type/sequencing-kits/library-prep-kits/dna-pcr-free-prep.html](https://illumina.com/products/by-type/sequencing-kits/library-prep-kits/dna-pcr-free-prep.html) heruntergeladen werden.

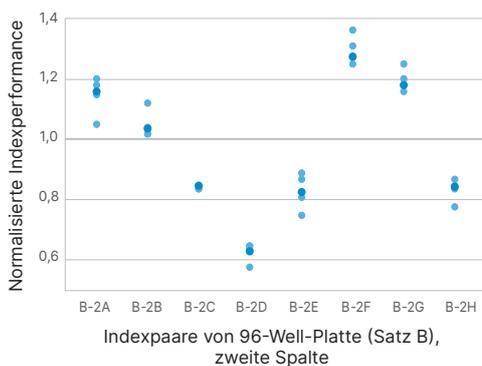


Abbildung 2: Indexpaare mit unter- oder überdurchschnittlicher Performance liefern diese konsistent: Vier Replikate (hellblau) und die mittlere (dunkelblaue) normalisierte Performance von acht Indexpaaren aus der zweiten Plattenspalte von UD-Indexsatz B. Ein Paar (B-2D) zeigt konsistent ein Ergebnis von > 30 % unter dem Median und ein Paar (B-2F) zeigt konsistent ein Ergebnis von > 20 % über dem Median.

## Verringern der Variabilität bei der Indexperformance

Anhand des Umkehrwerts der mittleren Indexrepräsentation für jedes in [Tabelle 1](#) und [Tabelle 2](#) dargestellte Indexpaar wurden Indexkorrekturfaktoren generiert. Durch die Multiplikation mit diesen Faktoren zur Anpassung des Volumens der einzelnen Proben beim Pooling (Zugabe von weniger überrepräsentierten Indizes und mehr unterrepräsentierten Indizes) lässt sich bei den Proben eine ausgeglichene Anzahl an Sequenzierungs-Reads erzielen.

### Verwendung einer Medianabweichung von 10 % als Schwellenwert für die Indexkorrektur

Diese Strategie wurde geprüft, indem Indexkorrekturfaktoren bei allen vier UD-Indexsätzen für Indexpaare mit einer Abweichung vom Median um mindestens 10 % angewendet wurden ([Abbildung 3](#)). Die Anordnung der 384 Indexpaare nach nicht korrigierter mittlerer Indexrepräsentation ergab ein lineares Muster mit guter Korrelation über vier Replikate ( $R^2 = 0,75$ ) und einem breiten Variabilitätsbereich (Variationskoeffizient (Coefficient of Variation); CV = 17 %). Im Anschluss an die Indexkorrektur wurde die Variation der Indexleistung reduziert (CV = 11 %). Die korrigierten Werte korrelierten nicht mehr mit der Performance vor der Korrektur ( $R^2 = 0,006$ ).

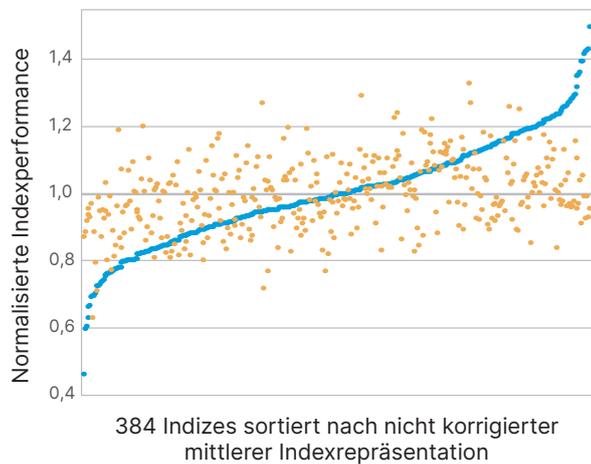


Abbildung 3: Die volumenbasierte Indexkorrektur beseitigt indexspezifische Variationen der Performance: 384 Indexpaare, die für Versuche ohne Korrektur nach Sequenzierungsergebnis geordnet sind (links = niedrigstes, rechts = höchstes). Nicht korrigierte Indizes (blau) zeigten einen CV von 17 %. Korrigierte Indizes (orange) zeigten einen verbesserten CV von 11 %.

### Verwendung einer Medianabweichung von 15 % als Schwellenwert für die Indexkorrektur

Zur Nachbereitung erstellte ein Bediener Bibliotheken mit allen 96 Indexpaaren aus UD-Indexsatz B ([Abbildung 4A](#)). Zur Reduzierung des Rauschens aufgrund von Fehlern bei der manuellen Pipettierung wurde der Schwellenwert für die Indexkorrektur von 10 % auf 15 % erhöht. Im Anschluss an die Indizierung wurden Bibliotheken zur Größenauswahl in gleichen Volumina (blau) oder unter Anwendung von Korrekturfaktoren für alle Indizes gepoolt, die mindestens 15 % vom Median (orange) abwichen. Die Gesamtvariation verringerte sich durch die Indexkorrektur von einem CV von 19 % (nicht korrigiert) auf 10 % (korrigiert). Bei erneuter Konzentration auf die zweite Plattenspalte für UD-Indexsatz B ([Abbildung 4B](#)) zeigten sich Indexpaare, die gegenüber normalen Paaren durchgehend eine nach unten (B-2D) oder oben (B-2F) abweichende Performance lieferten.

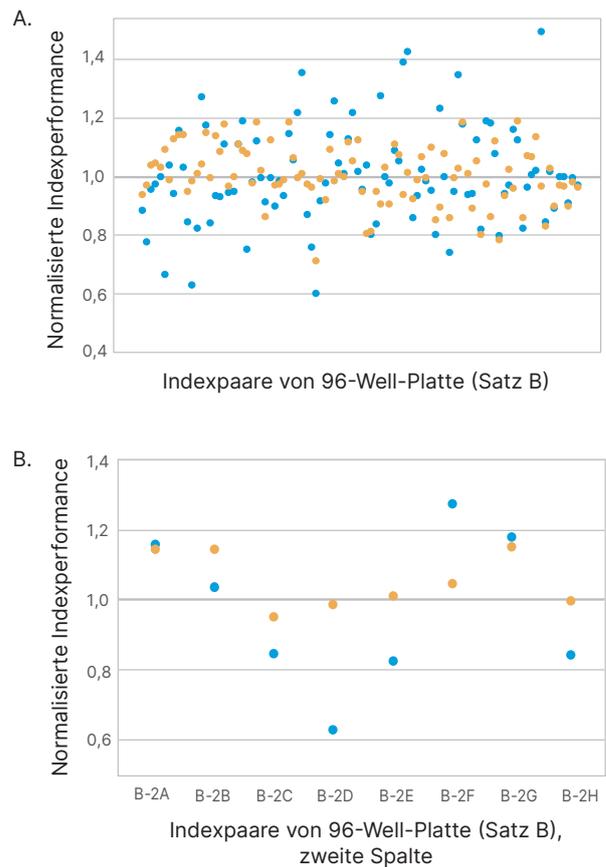


Abbildung 4: Die Indexkorrektur reduziert die Variabilität der Indexperformance: (A) 96 Indexpaare aus UD-Indexsatz B. (B) Acht Indexpaare aus UD-Indexsatz B, Spalte 2. Nicht korrigierte Indizes (blau) zeigten einen CV von 19 %. Korrigierte Indizes (orange) zeigten einen verbesserten CV von 10 %. Indexpaare mit einer Abweichung vom Median um mehr als 20 % (B-2D und B-2F) zeigten nach der Korrektur eine dem Median entsprechende Indexperformance.

Ein letzter Versuch konzentrierte sich auf drei Plattenspalten (7, 8, 9) aus UD-Indextsatz B und beinhaltete die Korrektur von 11 Indexpaaren, die in der Regel eine Abweichung von mindestens 15 % vom Median zeigten. Alle 24 Proben für die jeweilige Bedingung (korrigiert oder nicht korrigiert) wurden auf einer NovaSeq 6000 S4-Fließzelle analysiert (Abbildung 5). Wie erwartet sank der CV der Indexrepräsentation von 18 % (nicht korrigiert) auf 7 % (korrigiert). Obwohl die mittlere Coverage bei Einbeziehung aller Proben konsistent blieb, lag die minimale Coverage für die korrigierten Proben höher (Daten nicht dargestellt).

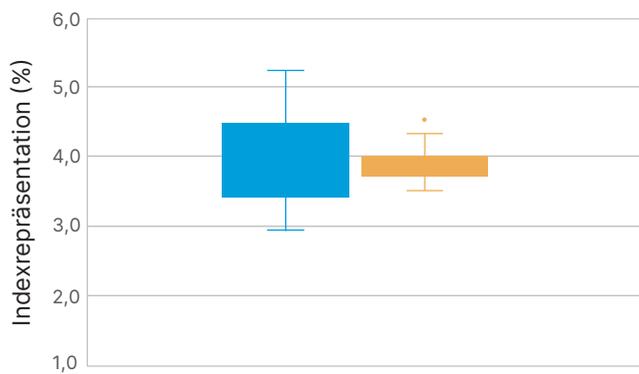


Abbildung 5: Die Indexkorrektur verringerte die Variabilität zwischen Proben, die auf derselben Fließzelle sequenziert wurden: Indexperformance für Bibliotheken mit 24 Indexpaaren aus UD-Indextsatz B, Plattenspalten 7, 8 und 9. Nicht korrigierte Indizes (blau) zeigten einen CV von 18 %. Korrigierte Indizes (orange) zeigten einen verbesserten CV von 7 %.

## Weniger Abfall und geringere Sequenzierungskosten bei Hochdurchsatz-Studien

### Auswahl der Indexpaare mit der besten Performance

Diese Zahlen zur Indexperformance von Illumina DNA PCR-Free geben an, bei welchen Indizes eine bessere Coverage zu erwarten ist und welche Spalten eine geringe Variation der Indexperformance aufweisen (Tabelle 3, orange hervorgehoben). Auf einer Platte mit 96 Proben beträgt der typische CV der Indexrepräsentation 15 bis 20 %. Kunden, die Unterabschnitte einer Platte verwenden, können die Performance ohne Korrektur verbessern, indem sie Spalten mit dem niedrigsten CV auswählen.

### Reduzierung der Variabilität durch Verwendung von Indexkorrekturfaktoren

Diese Ergebnisse veranschaulichen außerdem, dass sich eine unzureichende Indexperformance durch Anpassung der Bibliotheksvolumina beim Pooling korrigieren lässt. Durch das volumenbasierte Probenpooling anhand der Indexkorrekturfaktoren aus diesem Datensatz ließ sich die Variation zuverlässig reduzieren. Eine mögliche Fehlerquelle bei der manuellen Verarbeitung besteht in der Korrektur zu vieler Indexpaare. Die manuelle Korrektur von Indizes ist ein aufwendiges Verfahren, durch das sich das Rauschen aufgrund von Pipettierungsfehlern erhöhen kann. Bei einem höheren Schwellenwert für die Indexkorrektur (d. h. der Korrektur von Indizes mit einer Performanceabweichung von > 15 % vom Median gegenüber einer Abweichung von > 10 % vom Median) zeigten sich bessere Ergebnisse. Selbst die Korrektur einer geringen Anzahl der Indexpaare mit der geringsten Performance lässt erwarten, dass bestimmte Proben die erforderliche minimale Coverage erreichen und daher einbezogen werden können.

Tabelle 3: Indexperformancevariabilität (CV) nach Plattenspalte und nach Platte für Illumina-DNA/RNA-UD-Indizes

Spalte <sup>a</sup>	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	Platte <sup>b</sup>
Satz A	12,9 %	14,7 %	18,1 %	20,7 %	12,5 %	16,7 %	16,1 %	17,5 %	14,4 %	19,8 %	6,4 %	16,3 %	15,5 %
Satz B	13,8 %	22,6 %	14,1 %	7,0 %	25,2 %	9,4 %	14,9 %	19,7 %	20,6 %	15,4 %	18,6 %	6,7 %	16,6 %
Satz C	19,9 %	7,9 %	12,6 %	13,3 %	25,7 %	13,4 %	9,1 %	11,8 %	20,5 %	12,8 %	15,5 %	11,2 %	15,7 %
Satz D	19,3 %	14,4 %	9,3 %	13,1 %	19,3 %	14,8 %	9,5 %	12,7 %	14,2 %	19,4 %	17,1 %	16,8 %	15,1 %

a. Der CV wurde anhand der mittleren Indexperformancedaten in Tabelle 1 und Tabelle 2 berechnet. Die Bibliotheksvorbereitung erfolgte manuell anhand von 3 bis 5 Replikaten mit Illumina DNA PCR-Free Prep. Die Sequenzierung wurde auf dem NovaSeq 6000 System durchgeführt. Die Hervorhebungen zeigen Spalten mit einer Indexrepräsentation von weniger als 10 % (dunkelorange) bzw. weniger als 15 % (hellorange).  
 b. Während der Säulen-CV zwischen 6,4 % und 25,7 % liegt, reicht der CV der 96-Well-Platte nur von 15,1 % bis 16,6 %.

Betrachten Sie die Indexkorrektur als dynamischen Prozess mit iterativen Anpassungen während der laufenden Datenerfassung. Diese Daten liefern einen Ausgangspunkt für weitere Studien.<sup>§</sup> Die Vorteile lassen sich unter Umständen unter Einsatz von Automatisierung voll ausschöpfen.

## Zusammenfassung

Die Indexperformance ist ein wichtiger Faktor für die Variabilität der Proben-Coverage bei Versuchen mit Illumina DNA PCR-Free und dem NovaSeq 6000 System oder der NovaSeq X Series. Bei bestimmten Indexsequenzen wird konsistent ein höheres oder niedrigeres Ergebnis erzielt. Durch die Anpassung der Volumina beim Pooling lässt sich die Variabilität des Sequenzierungsergebnisses zwischen Proben reduzieren, die auf derselben Fließzelle sequenziert werden. Hierdurch erhöht sich zwar nicht das Gesamtergebnis der Sequenzierung, dafür jedoch die minimale Coverage, wodurch sich die Anzahl der Proben unterhalb eines Mindestschwellenwerts für die Coverage reduziert. Labore, die im Bereich der Populationsgenomikforschung tätig sind und andere Human-WGS-Anwendungen mit hohem Durchsatz durchführen, können den Probendurchsatz anhand der bereitgestellten Daten optimieren und Abfall vermeiden.

§ Es stehen aktuelle Indexrepräsentationsdaten und berechnete Korrekturfaktoren für v3-Indexsätze zur Verwendung mit Illumina DNA PCR-Free für das NovaSeq 6000 System und die NovaSeq X Series zur Verfügung. Laden Sie die Excel-Datei „Illumina DNA PCR-Free Prep Index Correction“ auf der Registerkarte „Documentation“ (Dokumentation) unter [illumina.com/products/by-type/sequencing-kits/library-prep-kits/dna-pcr-free-prep.html](https://illumina.com/products/by-type/sequencing-kits/library-prep-kits/dna-pcr-free-prep.html) herunter.

## Weitere Informationen

[Illumina DNA PCR-Free Prep](#)

## Quellen

1. Illumina. Illumina DNA PCR-Free Prep, Tagmentation. [illumina.com/content/dam/illumina/gcs/assembled-assets/marketing-literature/illumina-dna-pcr-free-data-sheet-m-gl-00679/illumina-dna-pcr-free-data-sheet-m-gl-00679.pdf](https://illumina.com/content/dam/illumina/gcs/assembled-assets/marketing-literature/illumina-dna-pcr-free-data-sheet-m-gl-00679/illumina-dna-pcr-free-data-sheet-m-gl-00679.pdf). Veröffentlicht 2020. Aktualisiert 2023. Aufgerufen am 6. September 2024.
2. Bruinsma S, Burgess J, Schlingman D, et al. [Bead-linked transposomes enable a normalization-free workflow for NGS library preparation](#). *BMC Genomics*. 2018;19(1):722. doi:10.1186/s12864-018-5096-9.



1 800 8094566 (USA, gebührenfrei) | +1 858 2024566 (Tel. außerhalb der USA)  
techsupport@illumina.com | [www.illumina.com](http://www.illumina.com)

© 2024 Illumina, Inc. Alle Rechte vorbehalten. Alle Marken sind Eigentum von Illumina, Inc. bzw. der jeweiligen Inhaber. Spezifische Informationen zu Marken finden Sie unter [www.illumina.com/company/legal.html](http://www.illumina.com/company/legal.html).  
M-GL-00005 DEU v2.0.